

# ***Anaplasma phagocytophilum* - förekomst i Sverige, profylax och behandling**

*Judith Grossman*



---

Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2013: 61

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsvetenskap

Uppsala 2013

---





Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

## ***Anaplasma phagocytophilum* - förekomst i Sverige, profylax och behandling**

*Anaplasma phagocytophilum* - prevalence in Sweden, prophylaxis and treatment

*Judith Grossman*

**Handledare:**

Susanna Sternberg Lewerin, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Examinator:**

Eva Tydén, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Omfattning:** 15 hp

**Kurstitel:** Självständigt arbete i veterinärmedicin

**Kurskod:** EX0700

**Program:** Veterinärprogrammet

**Nivå:** Grund, G2E

**Utgivningsort:** SLU Uppsala

**Utgivningsår:** 2013

**Omslagsbild:** Judith Grossman

**Serienamn, delnr:** Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2012: 61  
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

**On-line publicering:** <http://epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** *Anaplasma phagocytophilum*, anaplasmos, ehrlichios, fästingburna sjukdomar, betesfeber, fästingprofylax

**Key words:** *Anaplasma phagocytophilum*, anaplasmosis, ehrlichiosis, tick borne diseases, tick borne fever, tick prophylaxis

## INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning .....	1
Summary .....	2
Inledning.....	3
Material och metoder .....	3
Litteraturoversikt.....	3
Olika djurslag - förekomst och kliniska symptom .....	3
Häst.....	3
Nötkreatur .....	4
Får.....	4
Hund och katt.....	4
Människa .....	5
Vektorer.....	5
Patogenes.....	5
Diagnostik .....	6
Profylax .....	7
Vaccinutveckling.....	8
Behandling.....	8
Diskussion .....	9
Förekomst och kliniska symptom.....	9
Patogenes.....	9
Diagnostik .....	10
Profylax .....	10
Vaccinutveckling.....	11
Behandling.....	11
Litteraturförteckning .....	12



## **SAMMANFATTNING**

*Anaplasma phagocytophium* är en intracellulär bakterie som sprids via fästingar. Den orsakar sjukdom hos ett stort antal djurslag inklusive människa. Infektionen är sällan livshotande men kan drabba ett stort antal djur i fästingtäta områden och leda till produktionsförluster genom nedsatt tillväxt, mjölkproduktion och fertilitet. Det finns flera olika metoder för diagnostik, men det är viktigt att veta hur resultaten ska tolkas. Studier har indikerat att infektionen kan bli persistent, men det finns inga resultat som tyder på att en kronisk form av klinisk sjukdom förekommer. Profylax har hittills främst varit inriktad på att undvika fästingbett genom användning av bekämpningsmedel men forskning för utveckling av vaccin pågår.

## **SUMMARY**

*Anaplasma phagocytophilum* is an intracellular bacterium transmitted by ticks. It causes disease in a variety of species including humans. The infection is rarely lethal but can affect large numbers of animals in areas with many ticks leading to losses in production due to decreased growth, milk production and fertility. There are many diagnostic methods available, but it is important to know how to interpret the results. Studies have indicated that the infection can become persistent, but there are no results proving that a chronic form of clinical disease exists. Prophylaxis has until now primarily been focused on prevention of tick bites but vaccine development is in progress.

## INLEDNING

*Anaplasma phagocytophilum* är en vektorburen, aerob, gramnegativ och intracellulär bakterie. Arten är en sammanslagning av de bakterier som förr hette *Ehrlichia equi* och *Ehrlichia phagocytophila* samt den tidigare namnlösa bakterie som orsakar HGE (human granulocytär ehrlichios) hos människa (Dumler et al., 2001).

*A. phagocytophilum* kan infektera och orsaka sjukdom hos ett stort antal däggdjur (Stuen et al., 2007). I får- och nötbosättningar är produktionsbortfall, ökad infektionskänslighet och aborter problem framför allt för djurhälsan men också på grund av ekonomiska förluster för lantbrukaren. Hos hund och häst har det funnits diskussioner angående en eventuell kronisk variant av sjukdomen hos djur med diffusa symptom och en positiv antikroppstiter.

I denna litteraturstudie har jag velat ta reda på vad som finns skrivet om förekomsten av infektion med *A. phagocytophilum* hos olika djurslag i Sverige och metoder för diagnostik, profylax och behandling av sjukdomen. Jag ville också ta reda på om det finns några vetenskapliga belägg för att en kronisk form av sjukdomen skulle kunna förekomma, och hur den i så fall kan diagnostiseras och behandlas.

## MATERIAL OCH METODER

Litteratursökningen har skett i Web of Knowledge med kombinationer av sökorden "anaplasma phagocytophila, anaplasmosis, tick-borne, ehrlichia, ehrlichiosis, granulocytic anaplasmosis/ehrlichiosis, persistence, prevalence, vaccin\*, immunisation, immunization, treatment, antibiotic\*, prophylaxis och prophylactic". Dessa sökord har kombinerats på olika sätt tillsammans med sökord för djurslag (ovine, sheep, lamb\*, ewe\*, bovine\*, cattle, cow\*, calf, calves, equine, horse\*, canine, dog\*, feline, cat\*). Dessutom har en stor del av artiklarna hittats i referenslistor och reviewartiklar. Enstaka artiklar som inte fanns tillgängliga i Web of Knowledge har hittats via Scopus och PubMed samt på biblioteket.

## LITTERATURÖVERSIKT

### Olika djurslag - förekomst och kliniska symptom

*A. phagocytophilum* har påvisats hos bland annat domesticerade idisslare, katt, hund, häst, bison, vildsvin, rödräv, åsna, smågnagare, älg, rådjur och människa. Antikroppar har också detekterats hos hare och lodjur. (Stuen et al., 2007)

#### **Häst**

Sjukdomen benämns hos häst som granulocytär anaplasmos. Seroprevalensen i Sverige uppskattades i en studie gjord 1997-1998 då 2018 hästar undersöktes till 16,7%. Hästar ifrån norra Sverige hade lägre risk för smitta medan betesgång ökade risken. Äldre hästar var seropositiva i högre grad än yngre. Ingen skillnad i prevalens kunde ses mellan friska hästar och hästar med sådana problem som associeras med granulocytär anaplasmos (diffus hälta, stelhet, trötthet, ovillighet till arbete etc.). (Egenvall et al., 2001)

Kliniska symptom vid akut granulocytär anaplasmos inkluderar hög feber, nedsatt aptit, ökad hjärt- och andningfrekvens, ataxi och svullnad i benen. I en studie med experimentell infektion var det första kliniska tecknet feber som uppkom 6-9 dagar efter infektion. Febern kvarstod under cirka 6 dagar. Ataxi och svullnad var de symptom som visade sig senast (2-4 dagar efter febern) och som kvarstod under längst tid. (Franzén et al., 2005)

## **Nötkreatur**

Sjukdom orsakad av *A. phagocytophilum* kallas hos nöt ofta för betesfeber eller tick borne fever. Inkubationstiden kan variera mellan 4 till 14 dagar. Symptomen karaktäriseras av hög feber, ofta över 41°C. Febern kan vara från två dagar upp till två veckor, och längre tid hos högräktiga kor. Lakterande kor kan gå ned så mycket som 50 procent i produktion och andra beskrivna komplikationer inkluderar aborter, dödfödda kalvar och nedsatt spermatogenes. (Larsson et al., 2006)

En svensk studie av Larsson et al. (2006) undersökte förekomst och persistens hos kalvar av köttträs på lösdrift samt hos kalvar av mjölkträs som stallades in under vintern. Prevalensen i bägge grupperna var mycket hög, samtliga kalvar var seropositiva under någon del av försöket. Vid provtagningen i mars var 95% av köttträskalvarna fortfarande seropositiva och 89% var PCR-positiva. Bland mjölkträskalvarna var 90% seropositiva och 40% PCR-positiva i april, fyra månader efter installationen. Resultaten i studien anses indikera att persistens kan vara i upp till sex månader.

## **Får**

Sjukdomen benämns som anaplasmos, betesfeber, fästingfeber eller ehrlichios. Det är framför allt lamm som drabbas och symptomen omfattar hög feber (upp till 42°C) med nedsatt allmäntillstånd, nedsatt aptit och hältor (Stuen, 2007). Lammen kan också drabbas av sekundära infektioner. Det finns ingen studie över prevalensen hos svenska får, men i en norsk studie inkluderande 1208 lamm från 12 olika gårdar sågs en genomsnittlig seroprevalens på 55% (Grøva et al., 2011). Seropositiva lamm fanns även på gårdar där profylax för att förebygga fästingangrepp användes. En liten men signifikant skillnad i viktuppgång sågs, seropositiva lamm vägde 1,34 kg mindre än seronegativa vid avvänjning.. I en tidigare norsk studie sågs en högre vikt förlust, 3,8 kg hos seropositiva lamm (Stuen et al., 2002). Antalet lamm i denna studie var dock endast 50 och alla hörde till samma flock. I denna studie togs prover från lamm som vid vägning (en gång i veckan) hade tappat eller stannat i vikt. Endast ett av de 26 lamm som diagnostiserades via blodutstryk provtogs på grund av kliniska symptom på anaplasmos, men feber (>40,0°C) sågs hos 61,5% av de infekterade lammen.

Infektion hos dräktiga tackor anses kunna leda till abort (Stuen, 2007). I en spansk studie av Garzia-Perez et al. (2003) togs blodprov från 817 tackor som aborterat och förekomst av *A. phagocytophila* undersöktes genom blodutstryk för påvisande av inklusionskroppar i neutrofiler vilket hittades hos 16% av tackorna. Infektion med *A. phagocytophila* var associerad med opportunistiska bakterieinfektioner isolerade från prover tagna från vagina och foster, dock finns inga data för antalet av dessa infektioner. Det är också värt att notera att studien saknar en kontrollgrupp gällande förekomsten av *A. phagocytophila* i det aktuella området.

## **Hund och katt**

Anaplasmos hos hund kan orsakas av både *A. phagocytophilum* och *A. platys*. De vanligaste symptomen är feber, trötthet och nedsatt aptit. Hälsa, gastrointestinala symptom och blödningar, till exempel från nosen, förekommer också. Subklinisk infektion är vanligt. (Little, 2010)

Egenvall et al. (2000) undersökte förekomsten hos hundar i Sverige under åren 1991-1994 och fann en genomsnittlig seroprevalens på 17,7%, men infektionen var ovanlig hos hundar ifrån norra delen av landet.

Infektionen förekommer även hos katt, men är inte lika vanlig som hos hund. Klinisk sjukdom yttrar sig på liknande sätt som hos hund. (Little, 2010)

### **Människa**

*Anaplasma phagocytophilum* är en zoonotisk bakterie även om den inte smittar direkt mellan människa och djur utan endast via vektorn. Hos människa kallas sjukdomen för human granulocytär erlichios och förlöper ofta utan symptom. Fall av klinisk sjukdom är i regel okomplicerade med influensaliknande symptom, men komplikationer i form av pneumoni, njursvikt och neurologiska symptom förekommer, i sällsynta fall med dödlig utgång. (Smittskyddsinstitutet, 2012). I ett område med mycket fästingar i Sverige (Aspö utanför Karlskrona) uppmättes seroprevalensen för antikroppar mot *A. phagocytophilum* till 28% (Wittsjö, 2001).

### **Vektorer**

Den huvudsakliga vektorn för *A. phagocytophilum* är fästingar i familjen *Ixodidae* (hårda fästingar) och släktet *Ixodes*. Arter som visats bära på bakterien är bland andra *I. ricinus* (Europa), *I. scapularis* (östra USA), *I. pacificus* (västra USA) och *I. persulacatus* (Asien). (Dumler et al., 2005) *A. phagocytophilum* har också hittats hos fästingar i andra släkten, till exempel i Spanien hos *Dermacentor marginatus* och *Rhipicephalus bursa* (de la Fuente et al., 2005).

I en studie som undersökte prevalensen av *A. phagocytophilum* hos svenska fästingar detekterades bakterien hos 11,5% av de 1245 fästingarna, alla av arten *Ixodes ricinus* (vanlig fästing), som samlats in på sju olika platser i Sverige. Hos fästingar i larvstadium hittades inget fall av infektion. Detta stöder enligt författarna teorin om att ingen vertikal överföring till avkomman sker hos vektorn. (Severinsson et al., 2010)

### **Patogenes**

Smitta sker när fästingen suger blod och bakterier kommer in i cirkulationen. *Anaplasma phagocytophilum* är en intracellulär bakterie som infekterar granulocyter, företrädesvis neutrofiler. Granulocyter är kortlivade och lever endast upp till 12 timmar i cirkulationen innan de tar sig in i vävnader där de kan överleva i ett par dagar.

För att ta sig in i värdcellen måste bakterien binda till dess yta. Goodman et al. (1999) visade att infektion av humana leukocyter kunde förhindras med monoklonala antikroppar mot CD15s (även kallad sialyl-Lewis<sup>x</sup> (sLe<sup>x</sup>)), en tetrasackarid på leukocyten yta som är viktig för många olika typer av adhesion. I en annan studie (Herron et al., 2000) undersöktes på samma sätt betydelsen av P-selectin-glykoproteinligand-1 (PSGL-1) och antikroppar mot denna ytmolekyl förhindrade adhesionen av *A. phagocytophilum* till HL60-celler (en cellkultur med humana leukocyter).

Neutrofilens funktion är att genom fagocytos avlägsna och sedan oskadliggöra bakterier, antingen via ”respiratory burst” eller med hjälp av lytiska enzymer. ”Respiratory burst” startar med aktiveringen av NADPH-oxidas, ett enzymkomplex som finns på neutrofilens yta. Detta leder till att NADPH övergår till NADP<sup>+</sup> samtidigt som elektroner frisätts och tillsammans med syre bildas superoxidanjoner ( $\bullet\text{O}_2^-$ ). De reagerar i sin tur med vätejoner och väteperoxid

bildas. Enzymet myeloperoxidas finns i neutrofila granulocyter och katalyserar reaktionen då väteperoxid reagerar med en klorjon för att bilda hypoklorit, ett kraftigt oxiderande ämne som förstör proteiner och lipider hos bakterien samtidigt som det förstärker effekten av de lysosomala enzymerna. När neutrofilen fagocyterat en bakterie fuserar lysosomer med fagosomer för att bilda fagolysosomer med lysosomala enzymer som lysozym, proteaser och hydrolaser. Enzymerna tar död på bakterier genom att bryta ned dess cellväggar. (Tizard, 2008)

Neutrofiler infekterade med *A. phagocytophilum* misslyckas med att aktivera NADPH-oxidas och producerar följaktligen inte  $O_2^-$  (Mott & Rikihisa, 2000). En anledning till denna inhibering av respiratory burst är en minskning av uttrycket av en av komponenterna i enzymkomplexet NADPH-oxidas - *gp91<sup>phox</sup>* (Banerjee et al., 2000).

Gokce et al. (1999) visade att *A. phagocytophila* kan inhibera fusionen mellan fagosom och lysosom i infekterade granulocyter.

I ett försök av Scaife et al. (2003) studerades neutrofiler från får som infekterats experimentellt med *A. phagocytophilum*. Resultaten visade att infekterade neutrofiler i lägre grad än oinfekterade undergått apoptos efter 22 timmar i odlingsmedium. Andelen apoptotiska celler mättes via bindning av annexin V (ett protein vars bindning till cellytan indikerar apoptos) och via morfologisk undersökning under mikroskop. Andelen apoptotiska celler bland infekterade och oinfekterade neutrofiler var 30-35% respektive 52-78%.

## Diagnostik

Diagnostiska metoder inkluderar blodutstryk för påvisande av inklusionskroppar i granulocyter, PCR och serologiska tester. Blodbilden kan också vara vägledande för diagnos.

Utfallet av diagnostiska tester kan variera beroende på var i sjukdomsstadiet djuret befinner sig. I akut skede ses inklusionskroppar i granulocyter medan serologiska tester kan vara negativa. Djur med en persistent infektion är ofta seropositiva, men kan få negativa resultat vid PCR eftersom mängden bakterier i blodet är liten. En mer känslig metod kan vara 16S rRNA PCR. (de la Fuente et al., 2005; Franzén et al., 2005)

Positiva resultat vid PCR-undersökning sågs redan 2-3 dagar innan febern vid ett försök med experimentellt infekterade hästar och sedan under ytterligare 4-9 dagar efter att kroppstemperaturen återgått till det normala. Inklusionskroppar i granulocyter kunde ses i medeltal 2,6 (1-5) dagar efter att febern startat och under 6-10 dagar därefter. Serokonvertering skedde 12-16 dagar efter infektion. Hästarna fick också övergående leukopeni, neutropeni, lymfopeni, trombocytopeni och lindrig anemi. Trombocytnivåerna var det värde som normaliserades sist. (Franzén et al., 2005)

Eftersom *A. phagocytophilum* är obligat intracellulär går den inte att odla i vanliga medium. Däremot är det möjligt att odla bakterien *in vitro* i cellkultur. Till detta kan bland annat cellkulturer med humana celler som HL60 (human promyelocytic leukemia cells) eller fästingceller användas. Odling används inte för rutinmässig diagnostik men kan vara användbart i många olika typer av studier. (Passos, 2012)

## Profylax

Den vanligaste strategin för att minska exponeringen för *A. phagocytophilum* hos djur är användning av kemiska acaricider (medel som dödar spindlar och kvalster). Preparat mot ektoparasiter kan antingen registreras som läkemedel eller bekämpningsmedel. De beredningar som finns tillgängliga i Sverige presenteras i tabell 1.

Tabell 1. Preparat med indikationen profylaktisk behandling mot fästingar inklusive *I. ricinus* ([www.fass.se](http://www.fass.se); [www.kemi.se](http://www.kemi.se))

Substansgrupp	Aktiv substans <sup>a</sup>	Preparat	Djurslag	Karenstider <sup>b</sup>
Amidiner	Metaflumizon + amitraz	ProMeris Duo	Hund	
Fenylpyrazoler	Fipronil	Effipro	Katt	
		Exproline vet.	Katt	
		Frontline vet.	Hund	
		Frontline Comp	Katt	
	Fipronil + amitraz	CERTIFECT	Hund	
	Pyriprol	Prac-tic	Hund	
Organiska fosforföreningar	Foxim	Sebacil® vet.	Får Hund	S: 28, M: ej HK
Pyretroider och pyretriner	Deltametrin	Scalibor® vet.	Hund	
		Coopersect <sup>c</sup>	Nötkreatur	S: 14, M: 0
	Flumetrin	Bayticol® vet.	Får Nötkreatur	S: 10, M: ej HK S: 10, M: 7
		Seresto vet.	Hund Katt	
		Exspot® vet.	Hund	
	Permetrin <sup>d</sup>	Absorbine Ultrashield	Häst	S: 60
	Icaridin <sup>d</sup>	Centaura® mfl.	Häst	S: 60

<sup>a</sup> Den/de substanser i preparatet med verkan på fästingar.

<sup>b</sup> Karenstider i dygn. S=slakt, M=mjölk, ej HK=ej för djur som producerar mjölk för human konsumtion.

<sup>c</sup> Licenspreparat, godkänt av Jordbruksverket under sommaren 2012.

<sup>d</sup> Bekämpningsmedel, godkända av Kemikalieinspektionen

Under 2012 avregistrerades ett flertal bekämpningsmedel för användning på djur av kemikalieinspektionen (KIFS 2011:1), däribland Switch pour-on (permetrin), Flectron® (cypermetrin), Flusa® (alfacypermetrin) och Fly-tix (deltametrin). Sedan dessa preparat förbjöds har det enda alternativet för nötkreatur varit Bayticol® vet. och då detta preparat har en karenstid på 7 dagar för mjölk har det inte varit praktiskt användbart i mjölkbesättningar. Därför beviljade Jordbruksverket under 2012 licens för preparatet Coopersect (MDS Animal Health) med den aktiva substansen deltametrin och noll dagars mjölkarens hos nötkreatur (MDS Animal Health Norge, 2010; Jordbruksverket, 2012). Det finns ett motsvarande preparat med deltametrin i FASS ,Blaze vet., men detta har endast indikationen profylax mot löss och flugor ([www.fass.se](http://www.fass.se)).



För häst finns inget godkänt läkemedel för fästingprofylax men ett bekämpningsmedel med permetrim (Absorbine Ultrashield, Eclipse Biofarm AB) finns registrerat hos Kemikalieinspektionen ([www.kemi.se](http://www.kemi.se)). Det ska appliceras var 10-14:e dag ([www.eclipsebiopharmab.se](http://www.eclipsebiopharmab.se)). Det finns också flera godkända preparat som innehåller icaridin, bland andra Centaura® (Boehringer Ingelheim) och Renons mygg&fästingspray ([www.kemi.se](http://www.kemi.se)). Icaridin har en relativt kortvarig verkan, de olika preparaten anges av tillverkarna ha full effekt mellan 5 timmar och en dag.

En studie av Stuen et al. (2012) utvärderade effekten av flumetrin i form av ett pour-on preparat (Bayticol®) hos lamm som behandlades var 14:e dag. Behandlade lamm fick färre fästingar än obehandlade, men 30% av de behandlade djuren var trots detta seropositiva jämfört med 40% i kontrollgruppen. Eventuella brister i studien kan ha varit det relativt låga antalet djur (n=40, varav hälften som kontroll) och att lammen undersöktes endast var fjortonde dag vilket kan ha gjort att både fästingar och symptom på sjukdom kan ha missats.

Doseringsrekommendationen för Bayticol® är enligt FASS två behandlingar med tre veckors mellanrum på våren och en engångsbehandling på hösten för fästingprofylax hos nöt och får ([www.fass.se](http://www.fass.se)).

Resistens mot pyretroider har inte dokumenterats hos *I. ricinus*, men däremot hos andra fästingar, till exempel *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Morgan et al., 2009).

Profylaktisk behandling med långtidsverkande tetracyklin har testats hos får (Brodie et al., 1988) och en skyddande effekt mot *A. phagocytophilum* sågs under 15-33 dagar. Lamm som behandlats med tetracyklin i förebyggande syfte visade inga symptom vid den första experimentella infektionen, men vid en andra infektion fyra veckor senare utvecklade de sjukdom vilket tyder på att ingen immunitet utvecklades.

### **Vaccinutveckling**

Det finns idag inget vaccin mot *A. phagocytophilum* men forskning inriktad på utveckling av immuniseringsmetoder pågår. Flera av de studier som jag läst syftar till att skapa ett immunsvar mot vektorn i stället för mot bakterien i sig. En fördel med ett sådant vaccin är att det även skulle skydda mot infektion av andra fästingburna agens.

Subolesin, även kallat 4D8, är ett protein hos fästingen *Ixodes scapularis* (vanligt förekommande i Nordamerika) som medverkar i fästingens utveckling, reproduktion och digestion. I en studie immuniserades möss med subolesin tillsammans med adjuvans innan de infekterades med *A. phagocytophilum*. Därefter inokulerades varje mus med *I. scapularis* i larvstadium under en vecka. Av fästingar från immuniserade möss var 10-20% positiva för *A. phagocytophilum*. I kontrollgruppen (möss som fått enbart adjuvans) var 40-50% av fästingarna infekterade. (de la Fuente et al., 2006)

### **Behandling**

Eftersom bakterien är intracellulär krävs ett relativt lipofilt antibiotikum som kan passera över cellmembran (Lees et al., 2008). Den rekommenderade behandlingen hos djur är någon typ av tetracyklin, till exempel oxitetracyklin till häst (Weese et al., 2008) eller doxycyklin till katt och hund (Guardabassi et al., 2008). Som andrahandspreparat till hund och katt anger samma författare kloramfenikol. Inga fall av resistens mot dessa substanser har beskrivits (Guardabassi et al., 2008).

Det finns både korttidsverkande (t.ex. Terramycin® vet.) och långtidsverkande (t.ex. Tetroxy® prolongatum vet.) tetracykliner (www.fass.se). I en studie av Stuen et al. (2001) som jämförde effekten mellan lång- och korttidsverkande oxitetracyklin hos experimentellt infekterade lamm sågs inga skillnader i behandlingsresultat. Däremot fann man att 3 av de 8 lammen i studien fortfarande var infekterade 3 månader efter behandling trots att de inte uppvisade några kliniska symptom. Studien baserades dock på ett litet antal djur (4 per behandlingsgrupp).

I Sveriges Veterinärförbunds policydokument för antibiotikaanvändning anges doxycyklin som förstahandspreparat vid behandling av granulocytär anaplasmos hos hund. Inga rekommendationer finns för behandling av andra djurslag.

## DISKUSSION

### Prevalens och kliniska symptom

Eftersom bakterien sprids av en vektor är prevalensen till stor del beroende av exponeringen för fästingar. Den svenska prevalensen har studerats både på besättningsnivå och hos mer spridda grupper hos djur och då många studier funnit en stor andel seropositiva djur tycks exponeringen för bakterien vara hög på många platser i Sverige. På besättningsnivå har en prevalens på 100% uppmätts hos kalvar på bete. En stor studie som försökte kartlägga prevalensen hos landets hästar fann en seroprevalens på 16,7% och en annan hos hundar 17,7%. Jag har inte funnit någon studie över prevalensen hos svenska får. I en stor norsk studie var seroprevalensen 55%, men det nämns att Norge har stora problem med sjukdomen och prevalensen där kan vara högre än i Sverige. Hos människor boende i ett fästingtätt område i Sverige var 28% seropositiva. Att prevalensen är högre hos nötkreatur och får än hos häst, hund och människa skulle kunna förklaras med att dessa djur i stor utsträckning hålls på bete och att de sällan hanteras i så stor grad att fästingar kan upptäckas och plockas bort.

Hos hästar med återkommande, "vandrande" hältor, ovillighet till arbete, trötthet eller liknande relativt ospecifika symptom misstänks ibland en "kronisk form" av en fästingburen sjukdom orsakad av *A. phagocytophila* eller *Borrelia burgdorferii*. Jag har inte lyckats finna några vetenskapliga belägg för att en sådan kronisk form av sjukdom skulle förekomma. Det finns en svensk studie som tvärtom inte kunde finna något samband mellan denna typ av symptom och seroprevalens. Visserligen är seroprevalensen bland hästar överlag hög vilket skulle kunna göra det svårare att upptäcka ett sådant samband. Det vore intressant med en studie som istället testade hästarna via PCR för att kunna upptäcka ett eventuellt samband mellan persistent infektion och symptom.

### Patogenes

Det faktum att *A. phagocytophilum* infekterar neutrofila granulocyter gör att flera strategier för att undkomma cellens försvar har utvecklats. Man har funnit mekanismer hos bakterien som förhindrar bildandet av superoxidanjoner och som inhiberar fusionen mellan fagosom och lysosom. Detta gör att *A. phagocytophilum* effektivt kan ta sig förbi neutrofilens viktigaste försvarsmekanismer. Ett annat problem med denna målcell för bakteriens del är dess korta livstid. För att bakterierna ska hinna föröka sig i cellen har de därför utvecklat mekanismer som fördröjer apoptosen.

Trots att det finns studier om andra delar av patogenesen, så som hur bakterien tar sig från bettet till blodbanan och hur upptaget i neutrofilerna går till, har dessa sällan tagits upp i den litteratur jag läst. Kunskap om ett agens patogenes är mycket viktig för utveckling av metoder

för diagnostik, behandling och prevention så ytterligare forskning om dessa mekanismer skulle vara värdefull.

## Diagnostik

Det finns flera olika diagnostiska tester och det viktiga är att välja rätt test vid rätt tidpunkt. Vid misstanke om akut infektion kan ett blodutstryk vara användbart, och påvisande av inklusionskroppar i kombination med typiska symptom styrker diagnosen. Blodutstryk har fördelen att det ger ett snabbt svar och inte kräver annan utrustning än mikroskop och medel för färgning. Nackdelarna är att frånvaro av inklusionskroppar inte helt kan utesluta diagnosen, och att prover för utstryk lätt kan förstöras genom hemolys vilket gör det oanvändbart. SVA utför av denna anledning inga blodutstryk ([www.sva.se](http://www.sva.se)).

När man använder serologiska tester för påvisande av antikroppar är det viktigt att veta under vilken fas i sjukdomen som provet tros ha tagits för att resultatet ska kunna tolkas korrekt. För att kunna ställa en säker diagnos via serologi krävs ett parprov - det vill säga ett prov taget i den akuta fasen av sjukdomen och ett annat taget cirka två veckor senare. Ett enstaka positivt serologiskt prov säger inte mer än att djuret någon gång varit utsatt för smitta, vilket med tanke på den höga prevalensen och den vanligen subkliniska infektionen inte kan anses vara något bevis för att denna smitta faktiskt orsakar den aktuella sjukdomen.

PCR är en bra metod för diagnostik av flera anledningar. Den är känslig, kan utföras på plasma som är lättare att transportera och lagra och den påvisar förekomst av bakterien vilket bevisar en pågående infektion. I ett flertal av de refererade studierna har *A. phagocytophilum* kunnat påvisas i blodprover både från djur som aldrig visat klinisk sjukdom och från djur som tillfrisknat med eller utan behandling utan att visa återkommande kliniska symptom. Detta indikerar att infektionen ofta förlöper subkliniskt och dessutom kan bli persistent. Ett positivt resultat på PCR kan därför inte ensamt sägas bevisa en akut sjukdom, utan man måste också ta hänsyn till kliniska symptom och om djuret kan ha blivit utsatt för fästingar under inkubationstiden (betesgång, årstid etc.).

## Profylax

I studien som utvärderade effekten av ett preparat med flumetrin behandlades lamm var fjortonde dag, och trots att de behandlade lammen fick färre fästingar än de obehandlade serokonverterade 30% av dem under försöket. Det rekommenderade doseringsintervallet för detta preparat i FASS är betydligt längre än de 14 dagar som användes i studien. För ett effektivt skydd skulle kanske tätare behandlingar än de rekommenderade behöva användas, och om detta görs måste karenstiderna eventuellt justeras.

Sedan Flusa®, Flectron® och Switch® förbjöds i Sverige 2012 finns det få preparat för andra djurslag än hund och katt. För mjölkproducerande djur finns få alternativ till licenspreparatet Coopersect. Enligt kaskadprincipen ska ett i Sverige godkänt läkemedel med annan indikation och/eller annat djurslag användas i första hand, och i andra hand ett licenspreparat. Coopersect har samma aktiva substans som Blaze vet. som är godkänt för får och nöt för profylax mot andra ektoparasiter. Det borde därför vara möjligt att föreskriva Blaze vet. även för fästingprofylax hos dessa djurslag.

Det finns inget läkemedel som är godkänt för behandling av får som producerar mjölk för human konsumtion. Även om fårhållningen för mjölkproduktion inte är så omfattande i Sverige kan det bli ett problem i områden med mycket fästingar.

Profylaktisk behandling med tetracykliner nämns i en del artiklar, men dessa hänvisar ofta till mindre studier och jag har inte läst något om att detta är en metod som används i större utsträckning. I den studie som jag refererat till var den skyddande effekten kortvarig. Förebyggande användning av ett bredspektrumantibiotikum som tetracyklin kan självklart inte rekommenderas, särskilt som andra metoder för profylax finns tillgängliga.

### **Vaccinutveckling**

Den forskning som pågår för att finna ett vaccin mot *A. phagocytophilum* är mycket intressant. En stor fördel med ett vaccin mot fästingen i stället för mot bakterien skulle självklart vara att det skulle ge ett skydd mot flera olika fästingburna sjukdomar på en gång. Försök med immunisering mot fästingproteinet subolesin har gett lovande resultat i försök med *I. scapularis*, men jag har inte funnit några studier gjorda på den i Sverige vanligaste fästingen *I. ricinus*. En utmaning när det gäller ett vaccin mot fästingar är att det finns ett mycket stort antal fästingarter som överför olika sjukdomar i olika länder. För att ett vaccin ska kunna vara verksamt mot flera av dem gäller det att hitta ett gemensamt antigen, vilket man hoppas på att subolesin kan vara.

### **Behandling**

Behandling med tetracykliner förefaller vara mycket effektiv. Alla studier jag har läst har varit eniga om att doxycyklin och oxitetraacyklin är de lämpligaste substanserna, och Sveriges Veterinärförbunds antibiotikapolicy rekommenderar doxycyklin till hund. Tetracykliner kan inlagras i emalj och skelett och behandling av växande och dräktiga djur ska därför endast ske efter särskilt övervägande. Eftersom sjukdomen ofta drabbar unga djur, särskilt lamm, är det ännu viktigare med förebyggande åtgärder för dessa för att minska behovet av behandling.

Även om ingen antibiotikaresistens har beskrivits hos *A. phagocytophilum* är tetracykliner antibiotika med brett spektrum som enkelt selekterar för resistens hos bland annat gramnegativa tarmbakterier. Liksom för alla antibiotika bör man sträva efter att minska användningen och i första hand använda sig av preventiva metoder.

Vid val av antibiotikum är det viktigt att komma ihåg att *A. phagocytophilum* är intracellulär. Även om bakterien kan vara känslig för en substans *in vitro* kommer det inte att fungera *in vivo* om det inte kan passera över cellmembranet in i cellen.

## LITTERATURFÖRTECKNING

- Banerjee, R., Anguita, J., Roos, D., Fikrig, E. (2000). Cutting edge: Infection by the agent of human granulocytic ehrlichiosis prevents the respiratory bursts by down-regulating *gp91<sup>phox</sup>*. The Journal of Immunology, 164:3946-3949.
- Brodie, T.A., Holmes, P.H., Urquhart, G.M. (1988). Prophylactic use of long-acting tetracycline against tick-borne fever (*Cytoecetes phagocytophila*) in sheep. Veterinary Record, 122:43-44.
- de la Fuente, J., Naranjo, V., Ruiz-Fons, F., Höfle, U., Fernández de Mera, I.G., Villanúa, D., Almazán, C., Torina, A., Caracappa, S., Kocan, K.M., Gortázar, C. (2005). Potential vertebrate reservoir hosts and intervertebrate vectors of *Anaplasma marginale* and *A. phagocytophilum* in central Spain. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 5:390-401.
- de la Fuente, J., Almazán, C., Blouin, E.F., Naranjo, V., Kocan, K.M. (2006). Reduction of tick infections with *Anaplasma marginale* and *A. phagocytophilum* by targeting the tick protective antigen subolesin. Parasitology Research, 100:85-91.
- Dumler, J.S., Barbet, A.F., Bekker, C.P.J., Dasch, G.A., Palmer, G.H., Ray, A.C., Rikihisa, Y., Rurangirwa, F.R. (2001). Reorganization of genera in the families *Rickettiaceae* and *Anaplasmataceae* in the order *Rickettsiales*: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and "HE agent" as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 51:2145-2165.
- Dumler, J.S., Choi, K-S., Garcia-Garcia, J.C., Barat, N.S., Scorpio, D.G., Garyu, J.W., Grab, D.J., Bakken, J.S. (2005). Human granulocytic anaplasmosis and *Anaplasma phagocytophilum*. Emerging Infectious Diseases, 11:1828-1834.
- Egenvall, A., Bonnett, B.N., Gunnarsson, A., Hedhammar, A., Shoukri, M., Bornstein, S., Artursson, K. (2000). Sero-prevalence of granulocytic Ehrlichia spp. and Borrelia burgdorferi sensu lato in Swedish dogs 1991-94. Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 32:19-25.
- Egenvall, A., Franzén, P., Gunnarsson, A., Olsson Engvall, E., Vågsholm, I., Wikström, U-B., Artursson, K. (2001). Cross-sectional study of the seroprevalence to Borrelia burgdorferi sensu lato and granulocytic Ehrlichia spp. and demographic, clinical and tick-exposure factors in Swedish horses. Preventive Veterinary Medicine, 49:191-208.
- Franzén, P., Aspan, A., Egenvall, A., Gunnarsson, A., Åberg, L., Pringle, J. (2005). Acute clinical, hematologic, serologic and polymerase chain reaction findings in horses experimentally infected with a European strain of *Anaplasma phagocytophilum*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 19:232-239.
- Garza-Perez, A.L., Barandika, J., Oporto, B., Povedano, I., Juste, R.A. (2003). *Anaplasma phagocytophila* as an abortifacient agent in sheep farms from northern Spain. Annals of the New York Academy of Sciences, 990:429-432.
- Goodman, J.L., Nelson, C.M., Klein, M.B., Hayes, S.F., Weston, B.W. (1999). Leukocyte infection by the granulocytic ehrlichiosis agent is linked to expression of a selectin ligand. The Journal of Clinical Investigation, 103:407-412.
- Gokce, H.I., Ross, G., Woldehiwet, Z. (1999). Inhibition of phagosome-lysosome fusion in ovine polymorphonuclear leucocytes by *Ehrlichia (Cytoecetes) phagocytophila*. Journal of Comparative Pathology, 120:369-381.
- Grøva, L., Olesen, I., Steinshamn, H., Stuen, S. (2011). Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* infection and effect on lamb growth. Acta Veterinaria Scandinavica, 53:30.
- Guardabassi, L., Houser, G-A., Frank, L.A., Papich, M.G. (2008). Guidelines for antimicrobial use in dogs and cats. I: L. Guardabassi, L.B. Jensen, H. Kruse, eds. *Guide to antimicrobial use in animals*. Blackwell Publishing. sid. 201.

- Herron, M.J., Nelson, C.M., Larson, J., Snapp, K.R., Kansas, G.S., Goodman, J.L (2000). Intracellular parasitism by the human granulocytic ehrlichiosis bacterium through the P-selectin ligand, PSGL-1. *Science*, 288:1653-1656.
- Jordbruksverket. Fästingpreparat för mjölkkor. [online] (2012-05-25). Tillgänglig: <http://www.jordbruksverket.se/amnesomraden/djur/djurhalsopersonal/nyheter/nyheter2012/fastingpreparatformjolkkor.5.3a3862f81373bf24eab80004929.html>. [2013-03-18]
- Kemikalieinspektionen. Bekämpningsmedelsregistret. [online]. Tillgänglig: <http://apps.kemi.se/bkmregoff>. [2013-03-04]
- Larsson, L-G., Aspan, A., Bergström, K. (2006). Persistens av *Anaplasma phagocytophilum* hos naturligt infekterade svenska nötkreatur. *Svensk Veterinärtidning*, 8-9:13-19.
- Lees, P., Svendsen, O., Wiuff, C. (2008). Strategies to minimise the impact of antimicrobial treatment on the selection of resistant bacteria. I: L. Guardabassi, L.B. Jensen, H. Kruse, eds. *Guide to antimicrobial use in animals*. Blackwell Publishing, sid. 87.
- Little, S.E. (2010). Ehrlichiosis and Anaplasmosis in dogs and cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 40:1121-1140.
- Läkemedelsindustriföreningen. FASS.se om djurläkemedel. [online]. Tillgänglig: <http://www.fass.se/LIF/home/index.jsp?UserTypeID=1&clickable=0>. [2013-03-18]
- MDS Animal Health Norge. Produktdetaljer Coopersect® vet. [online] (2010-04-27). Tillgänglig: [http://www.msd-animal-health.no/products/117\\_46402\\_2/produktdetaljer.aspx](http://www.msd-animal-health.no/products/117_46402_2/produktdetaljer.aspx). [2013-03-05]
- Morgan, J.A.T., Corley, S.W., Jackson, L.A., Lew-Tabor, A.E., Moolhuijzen, P.M., Jonsson, N.N. (2009). Identification of a mutation in the *para*-sodium channel gene of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* associated with resistance to synthetic pyrethroid acaricides. *International Journal for Parasitology*, 39:775-779.
- Mott, J., Rikihisa, Y. (2000). Human granulocytic ehrlichiosis agent inhibits superoxide anion generation by human neutrophils. *Infection and Immunity*, 68:6697-6703.
- Passos, L.M.F. (2012). In vitro cultivation of *Anaplasma marginale* and *A. phagocytophilum* in tick cell lines: a review. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 21:81-86
- Scaife, H., Woldehiwet, Z., Hart, A., Edwards, S.W. (2003). *Anaplasma phagocytophilum* reduces neutrophil apoptosis in vivo. *Infection and Immunity*, 71:1995-2001.
- Severinsson, K., Jaenson, T.G., Pettersson, J., Falk, K., Nilsson, K. (2010). Detection and prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* and *Rickettsia helvetica* in *Ixodes ricinus* ticks in seven study areas in Sweden. *Parasites & Vectors*, 3:66.
- Smittskyddsinstitutet. Sjukdomsinformation om ehrlichios. [online] (2012-01-31). Tillgänglig: <http://www.smittskyddsinstitutet.se/sjukdomar/ehrlichios>. [2013-03-22]
- Stuen, S., Bergström, K. (2001). The effect of two different oxytetracycline treatment in experimental *Ehrlichia phagocytophila* infected lambs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 42:339-346.
- Sruen, S., Bergström, K., Palmér, E. (2002). Reduced weight gain due to subclinical *Anaplasma phagocytophilum* (formerly *Ehrlichia phagocytophila*) infection. *Experimental and Applied Aracology*, 21:209-215.
- Stuen, S. (2007). *Anaplasma phagocytophilum* - the most widespread tick-borne infection in animals in Europe. *Veterinary Research Communications*, 31:79-84.
- Stuen, S., Enemark, J.M.D., Artursson, K., Nielsen, B. (2012). Prophylactic treatment with flumethrin, a pyrethroid (Bayticol®, Bayer), against *Anaplasma phagocytophilum* infection in lambs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 54:31.
- Sveriges Veterinärförbund. Antibiotikapolicy del 2, hund och katt. [online] (2009). Tillgänglig: <http://www.svf.se/sv/Forbundet/Policydokument/Antibiotikapolicy-del-2-hund-och-katt>. [2013-04-01]
- Tizard, I.R. (2008). *Veterinary immunology, an introduction*. 8:e uppl. Saunders Elsevier.

- Weese, J.S., Baptiste, K.E., Baverud, V., Toutain, P-L. (2008). Guidelines for antimicrobial use in horses. I: L. Guardabassi, L.B. Jensen, H. Kruse, eds. *Guide to antimicrobial use in animals*. Blackwell Publishing. sid. 181.
- Wittsjö, B., Bjöersdorff, A., Eliasson, I., Berglund, J. (2001). First long-term study of the seroresponse to the agent of human granulocytic ehrlichiosis among residents of a tick-endemic area of Sweden. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Disease*. 20:173-178.